

学校编码: 10384

密级

学号: 24520131153477

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

过氧化物酶体增殖物激活受体 (PPAR) - α
调节 Th17 细胞分化的机制研究

The Mechanism study of PPAR α in regulating
Th17 cell differentiation

谢歆雯

指导教师姓名: 王焱 教授

专 业 名 称: 内科学

论文提交日期: 2016 年 4 月

论文答辩日期: 2016 年 5 月

2016 年 5 月

厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为()课题(组)的研究成果,获得()课题(组)经费或实验室的资助,在()实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（ ） 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，
于 年 月 日解密，解密后适用上述授权。

（ ） 2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年 月 日

摘要

目的：核激素受体家族中的过氧化物酶体增殖激活受体 (peroxisome proliferators-activated receptor, PPAR α) 主要参与脂质和糖类代谢的调节过程，而且 PPAR α 也在 T 淋巴细胞的免疫反应中发挥重要作用。研究表明 PPAR α 可以调控 Th1/Th2 细胞的分化程度，但对 Th17 细胞分化的调节尚不清楚。因此，本课题拟通过应用 PPAR α 基因敲除小鼠，阐明 PPAR α 在 Th17 细胞分化中的作用及其分子机制。

方法：体外分离培养野生型小鼠 (PPAR α +/+) 及 PPAR α 基因敲除小鼠 (PPAR α -/-)，应用 CD4⁺T 细胞特异性磁珠分选，分选出 CD4⁺T 细胞，CD3/CD28 抗体使 CD4⁺T 细胞刺激活化；应用流式细胞术、ELISA、Western Blotting 等方法检测深入探讨 PPAR α 敲除对 Th17 细胞分化的相关细胞因子及核内转录因子的影响，并明确其对 Th17 细胞分化调节的信号通路。

结果：CD4⁺T 细胞体外实验结果显示，PPAR α 基因敲除可以显著促进 Th17 细胞的分化，而激活 PPAR α 抑制了 Th17 细胞的分化，表明了 PPAR α 在 Th17 细胞分化中扮演重要角色。进一步研究发现，PPAR α 基因敲除促进了 IL-6/STAT3 信号通路的传导，分别阻断 IL-6 和 STAT3 逆转了 PPAR α 基因敲除对 Th17 细胞分化的影响；PPAR α 基因敲除促进 IKB- ζ 的表达而激活 PPAR α 可以抑制 IKB- ζ 的表达，提示了 PPAR α 可能通过调节 IKB- ζ 的表达从而参与 Th17 细胞的分化；PPAR α 基因缺失可以显著增加 mTOR/HIF1 α 的表达，进一步阻断其信号传导也显著抑制了 Th17 细胞的分化，但野生型和 PPAR α 敲除型未见明显的差异。

结论：通过上述实验我们明确了 PPAR α 在 Th17 细胞的分化中发挥重要作用；PPAR α 可能通过调节 IL-6/STAT3 信号通路及 IKB- ξ 的表达而参与 Th17 细胞的分化。

关键词：PPAR α ； Th17 细胞分化； IL-6； IKB- ξ ； mTOR

Abstract

Purpose: nuclear hormone receptor family of peroxidase proliferation agent activated receptor (peroxisome proliferators - activated receptor, PPAR alpha) is mainly involved in the regulation of lipid and sugar metabolism process; PPAR alpha in T lymphocyte immune response also play an important role. Studies have shown that PPAR alpha can regulate Th1 / Th2 cells differentiation degree, but to regulate the differentiation of Th17 cells is unclear. Therefore, this topic proposed by use of PPAR alpha knockout cells model, clarify PPAR alpha role in Th17 cells differentiation and its molecular mechanism.

Methods: through the extraction of wild type (PPAR alpha + / +) and PPAR alpha knockout mice (PPAR alpha - / -) of CD4⁺ T cells, CD3 / CD28, stimulate the activation of CD4⁺ T cells; Application of flow cytometry, Real - time PCR, ELISA and Western Blotting analysis methods such as PPAR alpha knockout of Th17 cell differentiation within the related cytokines and nuclear transcription factor influence, and clear the Th17 cell differentiation regulation of signaling pathways.

Results: In vitro CD4⁺ T cells experimental results show that PPAR alpha knockout can significantly promote the differentiation of Th17 cell, the activation of PPAR alpha inhibits Th17 cell differentiation, shows that PPAR alpha differentiation plays an important role in Th17 cells. Further study found that PPAR alpha knockout promoted the IL - 6 / STAT3 signaling pathway conduction, blocking IL - 6 and STAT3 respectively reversed PPAR alpha knockout of Th17 cell differentiation; PPAR alpha knockout promote IKB - zeta expression and activation of PPAR alpha can inhibit the expression of IKB - zeta, prompt the PPAR alpha may adjust the IKB - zeta expression to participate in Th17 cell differentiation; Lack of PPAR alpha gene can significantly increase the expression of mTOR/HIF1 alpha, further blocking the signal conduction was also significantly inhibited the Th17 cell differentiation, but the wild and PPAR alpha knockout did not see obvious difference.

Conclusion: We made clear through the above experiment that PPAR alpha play an important role in the differentiation of Th17 cells ;PPAR alpha may adjust the IL - 6 / STAT3 signaling pathways and IKB -zeta expression and to participate in the differentiation of Th17 cells.

Keywords: PPAR- α ; differentiation of Th17cells; IL - 6; IKB -zeta; mTOR

厦门大学博士论文摘要库

目录

摘要	I
ABSTRACT	II
第一章 前言	1
1.1 PPARs 概述	1
1.1.1 PPARs 简介	1
1.1.2 PPAR α 的简介	3
1.2 CD4 ⁺ T 淋巴细胞	3
1.3 Th17 细胞的研究进展	4
1.4 Th17 细胞分化的相关信号通路	6
1.4.1 IL-6/STAT3 信号通路	6
1.4.2 IKB- ζ 信号通路	7
1.4.3 mTOR 信号通路	8
1.5 PPAR 与 Th17 细胞在某些自身免疫性疾病中的相互作用	9
1.6 研究内容	10
第二章 材料及方法	11
2.1 实验动物	11
2.2 实验试剂	11
2.3 仪器与耗材	12
2.4 实验方法	12
2.4.1 脾细胞的提取和培养	12
2.4.2 CD4 ⁺ T 细胞的提取和培养	13
2.4.3 流式细胞术	14
2.4.4 RNA 的提取	15
2.4.5 蛋白的提取	18
2.4.6 ELISA 检测分析	21

第三章 结果与分析	24
3.1 PPAR α 在 Th17 细胞分化中的作用	24
3.1.1 PPAR α 敲除促进 Th17 细胞的分化	24
3.1.2 激活 PPAR α 抑制 Th17 细胞的分化	24
3.2 PPAR α 调节 Th17 细胞分化的分子机制	25
3.2.1 IL-6/STAT3 信号通路在 PPAR α 调节 Th17 分化中的作用	25
3.2.2 IKB- ζ 在 PPAR α 调节 Th17 分化中的作用	28
3.2.3 mTOR/HIF1 α 信号通路在 PPAR α 调节 Th17 分化中的作用	30
第四章 讨论与展望	32
4.1 讨论	32
4.2 展望	34
第五章 结论	35
附录	36
缩略语及中英文对照	36
参考文献	37
致谢	44
综述	45

Table of Contents

Abstract in Chinese.....	I
Abstract in English.....	II
Chapter 1 Introduction.....	1
1.1 The brief introduction of PPARs.....	1
1.1.1 The introduction of PPARs.....	1
1.1.2 The introduction of PPAR α	3
1.2 CD4 ⁺ T lymphocytes	3
1.3 The research progress of Th17 cells.....	4
1.4 Th17 related signaling pathways	6
1.4.1 IL-6 / STAT3 signaling pathway	6
1.4.2 IKB- ζ signaling pathway	7
1.4.3 mTOR signaling pathway	8
1.5 PPAR and Th17 cells in the interaction of some autoimmune diseases...	9
1.6 The research content	10
Chapter 2 Materials and methods.....	11
2.1 Experimental animals	11
2.2 Reagents	11
2.3 Instruments	12
2.4 Experimental Method	12
2.4.1 Extraction and culture of splenocytes	12
2.4.2 CD4 ⁺ T cells to extract and culture	13
2.4.3 Cytokine flow cytometry	14
2.4.4 Extract of the RNA	15
2.4.5 Extract of the total protein	18
2.4.6 ELISA procedure	21
Chapter 3 Results and analysis	24

3.1 PPARα regulate differentiation of Th17 cells	24
3.1.1 PPAR alpha knockout to promote Th17 cells differentiation	24
3.1.2 Activation of PPAR alpha inhibit of Th17 cell differentiation.....	24
3.2 PPARα regulating mechanisms of Th17 cell differentiation.....	25
3.2.1 IL-6 / STAT3 signaling pathway in PPAR α regulating of Th17 differentiation.....	25
3.2.2 IKB- ζ signaling pathway in PPAR α regulating of Th17 differentiation.....	28
3.2.3 mTOR/HIF1 α signaling pathway in PPAR α regulating of Th17 differentiation	30
Chapter 4 Discussion and Prospect	32
4.1 Discussion	32
4.2 Prospect	34
Chapter 5 Conclusion	35
Appendix	36
Abbreviations.....	36
References	37
Acknowledgements	44
Review	45

第一章 前言

1.1 PPARs 概述

1.1.1 PPARs 简介

过氧化物酶体增植物激活受体 (peroxisome proliferators-activated receptors, PPARs) 是一种属于核受体家族中配体激活的受体。PPARs 能够在结肠粘膜上皮适度表达,但是在脂肪组织中的表达是最高的。目前为止,主要包括了三个亚型,而这三种不同的 PPARs 亚型分别被命名为- α 、- δ 、和- γ 。现已证实,PPARs 的配体包括了多种结构不同的化合物,这其中主要包括了人工合成药物、工业化学试剂、内源性脂肪酸等不同的化合物。这些配体在体内能够诱导包括了调节脂肪代谢、过氧化物酶体增殖、 β 氧化增加以及细胞周期的调节等一些分子和细胞水平的生理学变化。经过对 PPARs 的深入了解,现在人们已经对 PPARs 活化相关的生物学反应及其可能的分子机制有了更进一步的了解。PPARs 在机体内具有重要作用,不仅对机体稳定状态下的调节脂质代谢反应、脂肪的生成、对胰岛素敏感、炎症反应以及细胞生长和分化等具有重要作用^[1],还包括对病理状态下的免疫反应,抗肿瘤、动脉粥样硬化等具有重要作用。目前研究表明,它在机体疾病状态下,不仅参与了代谢综合征主要包括糖耐量异常、胰岛素抵抗、高脂血症、动脉硬化症、高血压病和微量蛋白尿等,同时也参与了自身免疫性疾病的发生,包括 AIDS、自身免疫性脑脊髓膜炎等。此外,对 PPARs 的配体也有了更深入的研究,其现在也已经被认为是潜在的治疗药物,尤其是对临床中常见的动脉粥样硬化、高血压病、糖尿病肾病的治疗发挥了重要作用。

PPARs 最初是从筛选肝 cDNA 文库时获得,这是由 Isse-man 和 Green 用一段定位于核受体高度保守 C 区的 cDNA 序列作探针从而获得的。PPARs 编码的蛋白质的功能结构域被认为与其核受体极其相似^[2]。PPAR α 是第一个被认为是类似过氧化物酶体增殖物的化合物,因此被命名为脂质过氧化物酶体增植物激活受体- α 。另外两个与之有高度同源序列的 PPAR 亚型 PPAR β (δ) 和 PPAR γ 在 PPAR α 经克隆后不久也被相继克隆出来。这三种 PPAR 亚型组成了 1C 组,而这是由

48 种核受体组成的核激素受体超家族的组成的。PPARs 包括 PPAR α (NR 1C1), PPAR β (δ) (NR 1C2) 和 PPAR γ (NR 1C3), 这些亚型均含有四个主要的功能域, 包括 N 末端非配体依赖的转录活化域、DNA 结合域、协同作用因子结合域以及 C 末端 E F 域这四个主要的功能域, 而其中的配体结合域(LBD)和配体依赖的转录活化域(AF2 domain)属于 C 末端 E F 域。虽然均含有四个主要的结构域, 并且这三种 PPAR 亚型在氨基酸水平是具有高度的同源性, 但是 PPAR 亚型在机体有着不同的表达分布, 同时表现出不同的配体选择性和生物学行为^[3]。目前对 PPAR γ 的研究有了进一步的发现, PPAR γ 是一种树突状细胞成熟与功能的负调控因子, 它能促进体内 CD4⁺ T 细胞失能^[4]。PPAR 也被报道可以影响 Th 细胞的克隆功能, 然而, PPAR γ 对 Th 细胞分化作用的影响尚未得到证实^[5]。

由于三种 PPAR 亚型具有不同的基因编码, 因而 PPAR α 、 β (δ) 和 γ 在各种组织内的表达是不同的。已有研究报道, PPAR α 主要是高表达于例如肝、肾皮质、肠黏膜和心脏等具有丰富线粒体和 β 氧化活性的组织和器官, 但是 PPAR α 同样在一些其它组织中也发现了具有低水平的表达。PPAR γ 在膀胱、肠、肾、脾、肾上腺、肝、肺、脑和血管中低水平表达, 而在脂肪组织中具有高水平表达。与 PPAR α 和 PPAR γ 在不同组织中的表达具有差异性不同, PPAR β (δ) 几乎在所有组织或器官中的表达均处于低水平^[2]。虽然三种 PPAR 亚型在不同组织分布和表达, 但是这三种亚型在这些组织中所起的作用是相一致的。PPAR 亚型在各自的表达组织中, 均广泛参与了脂质调节、脂肪生成、胰岛素敏感、细胞生长和分化等多种生物学过程, 因此 PPAR 家族对于机体的生理功能具有重要作用。

此外, PPAR 是通过炎性细胞信号的负干扰从而介导抗炎作用的, 例如核辅阻遏物 (NCoR) 和维甲酸和甲状腺激素沉默中介受体^[6]。PPAR 激动剂包括内源性配体如亚油酸衍生物、13s-羟基十八碳二烯酸 (HODE) 以及一些人工合成的激动配体如治疗糖尿病的噻唑烷二酮类药物, 如吡格列酮^[6, 7]。以往的研究表明了 EAE 中 PPAR 的有利作用^[8-10]。最近研究表明, PPAR α 和 PPAR γ 能够在单核/巨噬细胞系中表达, 表明了这些受体可能参与免疫功能, PPAR γ 配体具有抗炎活性, 通过抑制内皮细胞趋化因子的生成直接影响 T 细胞功能。PPAR α 配体还调节炎症反应, 这是由于它们在 T 细胞中表达, 并能抑制白细胞介素 (IL-2) 的产生和 T 细胞增殖。此外, PPAR α 配体受细胞因子激活影响, 抑制 IL-6、血管细

胞粘附分子和环氧合酶-2 的表达,降低小鼠体内核因子- κ B (NF- κ B) 活性, IL-12 及 IL-6 产生^[11]。

1.1.2 PPAR α 的简介

PPAR α 是 PPAR 家族中第一个被成功克隆的亚型,它的激活是由过氧化物酶增殖化学信号完成的,因而得名。它在心脏、肝脏、骨骼肌等高脂肪酸氧化率的组织中表达最多,主要参与脂肪酸的体内平衡调节。

PPAR α 主要分为两大类配体(又称为激动剂):包括外源人工合成的配体以及内源性的生物分子配体。内源性(天然配体)包括许多的饱和、不饱和脂肪酸,主要包括比如亚油酸、油酸、软脂酸、花生四烯酸等,同时,还包括白三烯、8 S-羟基二碳四烯酸等一些主要通过脂加氧酶,或细胞色素环氧化酶催化脂肪酸生成的衍生物或代谢物。

贝特类药物是 PPAR α 外源合成的最主要的配体,重要的是贝特类对降血脂效果显著但是副反应却很小^[12],其安全性已经得到大量数据的证明。贝特类药物有许多,主要包括非诺贝特、氯贝特、诺衡、力平脂、苯扎贝特、匹立尼酸(WY14643)等药物,而我们实验中主要用到的是非诺贝特与 WY14643、GW7647,这些药物能够通过增强脂蛋白脂酶的活性加速脂蛋白的分解,同时也能减少肝脏中脂蛋白的合成,从而降低血脂,尤其是显著降低甘油三酯。现在越来越多新的 PPAR α 配体被人工合成,研究表明这类药物不仅具有传统意义上的降血脂作用,还有许多潜在的治疗作用,比如抗动脉粥样硬化、预防缺血再灌注损伤、抗炎症反应、抑制血管的生成、抑制肿瘤细胞的增殖等^[13-16]。

1.2 CD4⁺T 淋巴细胞

CD4⁺T 细胞激活后可分化为功能不同的 Th1 和 Th2、Th17 效应细胞,Th1 细胞分泌 IL-2、IFN γ 、TNF- β 等介导细胞免疫应答、迟发型超敏反应、器官特异自身免疫性疾病,在宿主拮抗胞内病原感染中起重要作用。Th2 细胞产生 IL-4、IL-5、IL-6、IL-9、IL-10、IL-13 等细胞因子介导体液免疫应答、过敏性和感染性疾病,在拮抗胞外病原体(如细菌、寄生虫)、B 细胞增殖分化以及哮喘病等方面具有重要作用。近年来,人们对初始 CD4⁺T 细胞分化为 Th1 或 Th2 细胞的机

制进行了广泛而深入的研究, 已取得一些共同的认识: 双信号刺激活化 CD4⁺T 细胞, 活化信号传向胞内, 启动多条信号转导通路, 激活转录因子, 继而转录因子结合到目的基因的启动子区, 促使原癌基因、细胞因子基因及其受体基因表达。细胞因子可经自分泌和旁分泌作用促使 T 细胞克隆扩增, 之后分化为功能各异的 Th1 和 Th2 效应细胞, 部分分化为记忆细胞。

1.3 Th17 细胞的研究进展

Th17 是一种辅助性 T 细胞, Th17 主要是由 Th0 细胞在 IL-6 和 IL-23 的刺激下分化而成的, 其分泌的促炎症因子主要有 IL-17、IL-22 等, 而 ROR γ 是其重要的转录因子^[17]。Th17 细胞通过 3 个步骤完成分化过程^[18], 包括: 诱导、扩增和稳定/维持。首先, 主要通过 TGF β 和 IL-6 的共同作用起始了 Th17 分化过程; 接着, 新分化的 Th17 细胞分泌 IL-21, IL-21 促进 Th17 细胞的扩增; 最后, IL-23 稳定和维持了 Th17 的细胞特征。Th17 细胞的分化是通过 IL-1 协同 IL-6 和 IL-23 共同调控而实现的, 从而维持 Th17 细胞中的主要细胞因子的表达, TGF- β 在诱导 Th17 细胞分化的过程中起着重要的作用。活化的初始 CD4⁺T 细胞, 在 TGF- β 单独的作用下分化为 Foxp3⁺Treg 细胞, 而在 TGF- β 和 IL-6 的共同诱导下则分化为 Th17 细胞。有研究证明, 初始 T 细胞在 IL-6 存在时, 可以有效分化为 Th17 细胞, 这种分化而成的 Th17 细胞具有 TGF- β 1 依赖性; 而 Foxp3⁺Treg 细胞的分化过程则可以通过在诱导初 T 细胞分化的过程中加入抗 IL-6 中和抗体而实现。免疫系统产生的 TGF- β 1 在机体处在稳定状态下或没有炎症损伤的情况下可以抑制效应 T 细胞的增殖, 从而诱导 Treg 细胞表达, 维持机体的免疫耐受, 但当机体存在感染或炎症时, 刺激急性期 IL-6 的大量产生, 与 TGF- β 1 共同诱导 Th17 细胞的分化, 这个过程介导了机体的前炎症反应。TGF- β 在诱导初始 T 细胞分化成 Th17 细胞过程中发挥着极其重要的作用, 这个作用表现在 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞能抑制 T 淋巴细胞产生细胞因子 IL-2 和 IFN- γ , 明显促进 IL-17 的产生, 但当加入抗 TGF- β 中和性抗体时, 则可抑制 IL-17 的产生。Th17 分泌的促炎因子 IL-17, IL-17 家族主要包括 5 个受体 (IL-17RA~IL-17RD 和 SEF), 以及 6 个成员的配体 (IL-17A~IL-17F)^[17]。IL-17 是一种致炎细胞因子, 而这主要是由活化的 T 细胞产生的, IL-17 不仅可以促进 T 细胞的激活, 同时可以刺激

内皮细胞、上皮细胞、成纤维细胞产生多种细胞因子，这些细胞因子主要包括 IL-6、IL-8、粒细胞-巨噬细胞刺激因子 (GM-CSF) 和化学增活素及细胞黏附分子 1 (CAM-1) 等，因这些因子的产生从而导致了炎症^[18]。IL-6⁺TGF⁻ 对初始 CD4⁺T 细胞而言是其定向分化为 Th17 细胞的充分条件，诱导 Th17 细胞的分化在 IL-6 或 TGF⁻ 单独作用时则无法实现。虽然对 Th17 分化过程，TGF⁻ 具有必不可少的作用，但是如果浓度过高，TGF⁻ 则将抑制 Th17 细胞的分化，这是通过诱导 Foxp3 的表达，从而拮抗转录因子 ROR γ t 的促分化作用，而在调控机制方面，TGF⁻ 促进 Th17 细胞分化，则是通过上调 IL-23 受体 (IL-23R) 的表达水平实现的，而 IL-6 促进 Th17 细胞的分化是通过启动 STAT3 从而诱导 Th17 细胞的特征性转录因子 ROR γ t 的表达；另一方面，IL-6 可以通过内源性产生的 TGF⁻ 从而诱导 IL-23R 的表达和 Th17 细胞的分化^[17]。

调控 Th17 细胞免疫功能的重要细胞因子 IL-23^[48]，并不参与 Th17 细胞的早期分化，其主要作用是促进 Th17 细胞增殖和维持细胞亚群的稳定。相关研究也证实 IL-23 在自身免疫疾病中，IL-23 是 Th17 细胞导致免疫性病理损伤的重要效应因子，并在诱导自身免疫疾病如 EAE 胶原性关节炎等发挥重要作用。已有报道证实，IL-23R 的表达与 Th17 分化进程同步上调，表明 Th17 细胞对 IL-23 的反应能力，能够随着分化的进行而逐步提高。Th17 细胞极易发生凋亡，如果敲除 IL-23R，同时导致 Th17 细胞功能缺陷，最新报道表明，在 IL-23R 缺陷的小鼠机体内，Th17 细胞数量较正常值显著降低，同时对自身免疫性脑脊髓膜炎的发病具有较高的抵抗能力。而 IL-6、IL-21、TGF⁻ 均可调控 IL-23R 的表达^[18]，此外，IL-23R 表达调控过程也可能有 IL-23 和 ROR γ t 的参与。最先发现的 Th17 细胞的转录因子是 ROR γ t，在 Th17 细胞整个分化过程中 ROR γ t 有着连续性的表达，因此被认为是 Th17 的特异性标志物，同时 ROR γ t 控制 IL-17 等重要细胞因子的表达过程。在 ROR γ t 基因敲除小鼠体内，可与 IL-23 一样出现 Th17 细胞大量减少，伴有 IL-17 表达量明显下降；此外，IL-6 基因敲除小鼠，可引起 ROR γ t 的表达减少，Th17 细胞数量减少，IL-17 表达量下降等表现。初始 T 细胞在 ROR γ t 缺陷时无法分化为 Th17 细胞，在 ROR γ t 缺陷的 T 细胞的小鼠体内，能够出现 Th17 细胞减少，从而减缓 EAE 发病；相反，若 ROR γ t 的过度表达，Th1 和 Th2 细胞分化将被抑制，同时促进 Th17 细胞分化，从而促进 EAE 发病。

IL-6 和 IL-21 调节 Th17 分化所必需的活化 STAT3^[19], STAT3 一方面可以通过上调 ROR γ t 的表达, 促进 Th17 细胞亚群的分化, 另一方面 STAT3 在 Th17 细胞的细胞因子的表达过程和增殖亚群特性维持中发挥着重要作用。STAT3 缺失将导致 ROR γ t 表达量显著下降, 从而抑制 Th17 分化相关因子, 如 IL-17、IL-21、IL-22、IL-23R 的表达, 但是如果 STAT3 持续启动, 则会促进 Th17 细胞的分化。另外, STAT3 抑制因子 SOCS3 (suppressor of cytokine signaling 3) 缺失能够增强 Th17 细胞对 IL-23 的反应能力, 从而上调 IL-17 的表达。

在实验动物研究的基础上, 包括感染性疾病、自身免疫病、移植反应、过敏和肿瘤的, 已有报道表明 Th17 细胞及其相关的细胞因子也与一系列人类疾病相关, 目前研究对于人类 Th17 细胞是否作为致病角色的证据还不充分, 但是很多间接得证据表明, Th17 细胞在风湿性关节炎、多发性硬化、溃疡性结肠炎、甲状腺自身免疫病等自身免疫性疾病和一些感染性疾病中发挥重要作用。

1.4 Th17 细胞分化的相关信号通路

1.4.1 IL-6/STAT3 信号通路

IL-6 是由体内多种细胞合成的 184 个氨基酸组成的糖蛋白, 这些细胞包括单核细胞、巨噬细胞、成纤维细胞、淋巴细胞、内皮细胞、肠上皮细胞和一些肿瘤细胞等, 除此之外, 脂肪细胞也可合成 IL-6, 内脏脂肪可产生大量的 IL-6。在机体稳定情况下即生理情况下, IL-6 的生成可以由 IL-1、干扰素 (IFN)、TNF、RNA 病毒、DNA 病毒和细菌内毒素等调节; 在急性炎症反应时, IL-6 的生成主要依赖于单核细胞和巨噬细胞, 但是在慢性炎症反应时, IL-6 的主要来源则是 T 细胞, 急性炎症反应时, IL-6 能够诱导肝细胞产生 C-反应蛋白、纤维蛋白原、血清淀粉样蛋白 A 等肝脏急性期蛋白, 这是 IL-6 在急性炎症反应时的重要作用^[17]。

膜连接受体 (IL-6R α 链) 以及可溶性受体 (s IL-6R) 是与 IL-6 连接的两种受体。细胞内信号转导又称之为经典途径是由 IL-6 / IL-6R α 链复合物与细胞膜上的 gp130 (IL-6R β 链) 相互作用引起的; 而反式途径, 是为 IL-6 发挥作用的主要途径, 因 IL-6R α 链的表达只有在少数细胞表面可产生, 而 sIL-6R 则广泛存在于血清中, 并且 gp130 在所有体细胞中均有表达, 所以 IL-6 能够通过血

Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”.

Fulltexts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to etd@xmu.edu.cn for delivery details.